Énergie, Mines et Ressources Canada
Energy, Mines and Resources Canada

Nº 86–3F

RAPPORT DE CANMET

MÉTHODES ANALYTIQUES DE RECHERCHE SUR LA RÉDUCTION DE LA PRODUCTION D'ACIDE PAR LES BACTÉRIES DANS DES STÉRILES PYRITEUX

M. SILVER

CANMET
Centre canadien de la technologie des minéraux et de l'énergie
Canada Centre for Mineral and Energy Technology

Canada

88-01546/

MÉTHODES ANALYTIQUES DE RECHERCHE SUR LA RÉDUCTION DE LA PRODUCTION D'ACIDE PAR LES BACTÉRIES DANS DES STÉRILES PYRITEUX

M. Silver
Laboratoire de métallurgie extractive

PROGRAMME DE RECHERCHE SUR LES MINÉRAUX
LABORATOIRES DES SCIENCES MINÉRALES
RAPPORT DU CANMET 86-3F

33 pp

MICROMEDIA

NOVEMBRE 1985

© Ministre des Approvisionnements et Services Canada 1987

En vente au Canada par l'entremise des

Librairies associées
et autres libraires

ou par la poste auprès du

Centre d'édition du gouvernement du Canada
Approvisionnements et Services Canada
Ottawa (Canada) K1A 0S9

N° de catalogue M38-13/86-3F au Canada: $8.00
ISBN 0-660-92182-0 à l'etranger: $9.60

Prix sujet à changement sans préavis

MÉTHODES ANALYTIQUES DE RECHERCHE SUR LA RÉDUCTION DE LA PRODUCTION D'ACIDE PAR LES BACTÉRIES DANS DES STÉRILES PYRITEUX

M. Silver*

Résumé

Depuis 20 ans, le CANMET réalise des recherches sur la production et la circulation des eaux de mine acides à l'intérieur des stériles de minerai d'uranium. Ces études ont progressivement fait place à des recherches sur des moyens de prévenir la production d'eaux de mine acides, par manipulation du niveau phréatique et par établissement d'une couverture végétale palustre à la surface des stériles. On a préparé ce recueil de procédés analytiques pour assurer l'uniformité des analyses, et ainsi pouvoir comparer les données fournies par diverses enquêtes sur les stériles de minerai.

*Chercheur scientifique, Section de la biotechnologie, Laboratoires des sciences minérales, CANMET, Énergie, Mines et Ressources Canada, Ottawa, K1A 0G1.

ANALYTICAL TECHNIQUES FOR RESEARCH ON THE ABATEMENT OF BACTERIAL ACID GENERATION IN PYRITIC TAILINGS

M. Silver*

Abstract

Over the past 20 years, CANMET has conducted investigations on production and movement of acidic mine drainage within uranium tailings. These studies have gradually evolved into investigations on the prevention of acidic drainage production by water-table manipulation and tailings surface coverings of wetland vegetation. The following compendium of analytical procedures has been prepared to provide analytical uniformity in order that the data from various investigations on mine tailings can be compared.

* Research Scientist, Biotechnology Section, Mineral Sciences Laboratories, CANMET, Energy, Mines and Resources Canada, Ottawa, K1A 0G1.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ i

ABSTRACT iii

1.0 INTRODUCTION 1

2.0 CONCEPTION ET CONSTRUCTION DU LYSIMÈTRE 1

3.0 ÉCHANTILLONNAGE DES SOLS ET DES STÉRILES 6

4.0 ANALYSE PHYSIQUE DES SOLS ET DES STÉRILES 6

4.1 Granulométrie des sols organiques 6

4.2 Degré de décomposition de la matière organique dans les sols .. 8

4.2.1 Teneur en fibres du sol non frotté 8

4.2.2 Teneur en fibres du sol frotté 8

4.2.3 Indice au pyrophosphate 8

4.2.4 Degré de décomposition de la tourbe 10

4.3 Densité apparente 10

4.4 Disponibilité de l'eau 11

4.4.1 Teneur en eau 12

4.4.2 Capacité de rétention d'eau 12

4.4.3 Capacité de rétention d'eau au champ 12

4.5 Rapport carbone-azote 12

4.5.1 Dosage du carbone organique total au moyen de l'oxydation par voie humide et du titrage du sulfate ferreux 14

4.5.2 Dosage colorimétrique du carbone total 14

4.5.3 Dosage de l'azote carbonique 14

4.5.4 Perte au feu 15

4.6 Capacité d'échange cationique 15

4.7 pH 16

4.8 Porosité 16

4.8.1 Porosité d'un échantillon de stériles 17

4.8.2 Porosité d'un échantillon de sol 17

5.0 MICROBIOLOGIE DES SOLS ET DES STÉRILES 17

5.1 Estimation des concentrations de bactéries ferro-oxydantes et thio-oxydantes 18

5.2 Évaluation des populations de microorganismes hétérotrophes aérobies et anaérobies dans les stériles et le sol 18

5.3 Taux de respiration 20

6.0 ANALYSE DES COMPOSÉS ORGANIQUES DANS LES SOLS ET LES STÉRILES 20

6.1 Glucides 22

6.2 Acides organiques 22

7.0 REMERCIEMENTS 23

8.0 BIBLIOGRAPHIE 24

TABLEAU

1. Détermination du nombre le plus probable, par utilisation de 9 éprouvettes contenant trois échantillons de 10 mL, trois échantillons de 1 mL et trois échantillons de 0,1 mL 19

FIGURES

1. Construction d'un lysimètre peu coûteux en plastique 3

2. Détails de construction d'un lysimètre en plexiglas de forme carrée, servant à déterminer les caractéristiques de lixiviation de stériles déposés selon diverses méthodes 4

3. Détails de construction d'un grand lysimètre en plexiglas pouvant contenir une tonne de stériles 5

4. Détails de construction d'un appareil d'analyse granulométrique ... 7

5. Seringue hypodermique modifiée, en plastique, servant à déterminer la teneur en fibres du sol 9

6. Appareil à plaques de pression permettant de déterminer la capacité de rétention d'eau des sols 13

7. Appareil permettant de déterminer le taux de respiration des microorganismes dans un échantillon de sol 21

MÉTHODES ANALYTIQUES DE RECHERCHE SUR LA RÉDUCTION DE LA PRODUCTION D'ACIDE PAR LES BACTÉRIES DANS DES STÉRILES PYRITEUX

1.0 INTRODUCTION

Le dépôt de résidus pyriteux miniers et de traitement du minerai, dans des bassins de retenue des eaux en surface, favorise la formation d'eaux acides d'infiltration contenant de fortes concentrations de métaux lourds, dangereuses pour l'environnement. Les bactéries ferro-oxydantes oxydent la pyrite (1) conformément à l'équation:

$$4FeS_2 + 15O_2 + 2H_2O \rightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2SO_4 \qquad \text{Éq. 1}$$

avec formation d'acide sulfurique et de sulfate ferrique soluble. Le fer ferrique ainsi formé oxyde les minéraux métalliques sulfurés résiduels contenus dans les stériles:

$$Fe_2(SO_4)_3 + MS \rightarrow MSO_4 + 2FeSO_4 + S^\circ \qquad \text{Éq. 2}$$

Il en résulte des sulfates métalliques solubles, des sulfates ferreux et du soufre élémentaire, qui peuvent être à nouveau oxydés par ces bactéries en sulfates ferriques et acide sulfurique:

$$4FeSO_4 + O_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O \qquad \text{Éq. 3}$$

$$2S^\circ + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4 \qquad \text{Éq. 4}$$

L'hydrolyse du sulfate ferrique a pour résultat le dépôt de précipités secondaires de fer, comme la jarosite d'hydronium, et la production d'acide sulfurique:

$$3Fe_2(SO_4)_3 + 12H_2O \rightarrow 2O\{H[Fe(SO_4)_2.2Fe(OH)_3]\} + 5H_2SO_4 \qquad \text{Éq. 5}$$

Ayant pris conscience de l'incidence néfaste des résidus miniers sur l'environnement, on a décidé de consacrer plus de recherches aux méthodes visant à combattre cette pollution. La recherche actuelle réalisée au Centre canadien de la technologie des minéraux et de l'énergie porte sur la production de compost (2) ainsi que sur des expériences en laboratoire (3) et in situ (4) de lixiviation des stériles. On a suggéré les procédés palliatifs suivants pour réduire les infiltrations acides contenant des métaux lourds à partir des stériles; on pourrait

- intercepter la source d'oxygène;
- inhiber chimiquement les bactéries ferro-oxydantes;
- confiner les eaux d'infiltration au dépôt de stériles;
- neutraliser les eaux d'infiltration issues des stériles (5).

Parmi ces procédés, l'inhibition de l'oxydation bactérienne de la pyrite, par élimination de l'oxygène des stériles, semble être le moyen le plus efficace et le plus économique dans un climat où les précipitations surpassent l'évaporation. On a montré que la production d'acide sulfurique était complètement bloquée soit par une couche de compost (5), soit par une couche d'eau (6, 7). Les études les plus récentes (8) ont montré que ni le compost ni un sol marécageux n'éliminaient à la fois la production d'acide et les émanations de radon à partir des stériles de minerai d'uranium.

Au Canada, la recherche sur la végétation des dépôts de stériles est réalisée par le gouvernement (9), des experts-conseils du secteur privé (10) et des compagnies minières publiques (11, 12) depuis les années 1970. Cependant, en examinant la documentation disponible à ce sujet, on constate que les procédés d'expérimentation et d'analyse employés dans ces études sont divers et donc rendent difficile une corrélation des données. Dans ce rapport, on cherche à présenter des procédés normalisés d'analyse chimique, physique et microbiologique des sols et stériles pour faciliter la comparaison des données expérimentales.

2.0 CONCEPTION ET CONSTRUCTION DU LYSIMÈTRE

On peut employer des études de lixiviation accélérée en laboratoire pour calculer les caractéristiques de lixiviation des stériles durant une période plus courte que ne le permet la recherche hydrogéologique (7). On a corrélé les résultats des recherches basées sur l'emploi de lysimètres de laboratoire avec les données des essais in situ; les résultats de ces recherches

se sont avérés reproductibles, et permettent une comparaison entre des stériles différents mais de caractère similaire (6,7,5). Les lysimètres sont des bacs servant à la lixiviation, que l'on installe soit dans des laboratoires, soit en plein air sur le terrain; ils contiennent du sol ou d'autres matériaux expérimentaux tels que des stériles, à travers lesquels on peut faire passer un volume connu de lixiviant, et dont on peut recueillir les effluents pour fins d'analyses physiques et chimiques. On peut employer les données fournies par les essais lysimétriques de lixiviation, pour déterminer les caractéristiques de lixiviation des produits placés à l'intérieur du lysimètre dans des conditions contrôlées.

Les détails expérimentaux concernant la conception et la réalisation des essais lysimétriques de lixiviation sont importants, lorsqu'il s'agit d'obtenir des données permettant de prévoir les manifestations chimiques, physiques et biologiques du matériel expérimental. La dimension du lysimètre peut aller de quelques grammes à quelques tonnes, et dépend des données à obtenir ou des manipulations à effectuer. Par exemple, on peut installer des lysimètres de petites dimensions dans des réfrigérateurs, pour déterminer l'effet des variations de température (13), mais ceux-ci permettent difficilement d'étudier les variations verticales et horizontales du matériau expérimental. Les petits lysimètres sont aussi plus sensibles aux effets de paroi, tels que l'afflux de gaz atmosphériques et la canalisation du lixiviat. Les lysimètres doivent être suffisamment robustes pour résister à toute manipulation que l'on doit effectuer pour empêcher des fuites. Par conséquent, ils doivent être fabriqués soit avec les contenants en plastique disponibles (figure 1), soit avec du plexiglas assemblé au moyen de vis; comporter des assemblages à tenon et mortaise; ou être pourvus d'une armature extérieure. Les matériaux de construction doivent être inertes, préférablement composés de verre ou de plastique, et tous les raccords doivent être étanches.

On peut utiliser les essais de lixiviation les plus simples, basés sur l'utilisation de colonnes de type burette, pour faire des expériences sur des quantités de matériau de l'ordre du gramme dans des pipettes de Pasteur, jusqu'à des quantités de l'ordre de dizaines de kilogrammes dans des colonnes de verre et de plastique. Les contenants en plastique, comme ceux illustrés à la figure 1, contiennent chacun 20 kg de stériles avec ou sans couche de sol disposée à la surface des stériles; ils sont peu coûteux et faciles à construire, à entretenir et à manipuler, mais ils tendent à se détériorer lors d'utilisations prolongées. Ce type de lysimètre convient aux essais de lixiviation ne dépassant pas 2 ans et ne doit être qu'occasionnellement déplacé. On fabrique un type plus robuste de lysimètre avec des feuilles de plexiglas de 1 à 2 cm d'épaisseur, assemblées avec des vis ou un système de rainures et extérieurement renforcés avec des armatures métalliques (figure 2). On a employé avec succès ce type de lysimètre pour étudier les caractéristiques de lixiviation de quantités de 25 à 50 kg de stériles déposés suivant diverses configurations; cet appareil est suffisamment robuste pour résister à plusieurs cycles de gel et de dégel. On peut employer comme lysimètres des cuves cylindriques en plastique, renforcées par des armatures extérieures, pour effectuer des expériences sur des quantités de stériles comprises entre 100 et 250 kg, ou même davantage (8,5). On peut construire de plus grands lysimètres, comme celui présenté à la figure 3, contenant 1 tonne de stériles, au moyen de plexiglas renforcé par des armatures extérieures. On a même construit des lysimètres encore plus grands, d'une capacité de 11 tonnes de stériles, avec du contreplaqué renforcé par des armatures extérieures (14). On a aussi décrit des bassins de plein air, contenant 200 t de stériles (15).

Quelles que soient la dimension et la nature des matériaux que l'on étudie lors des essais lysimétriques de lixiviation, on doit considérer plusieurs facteurs importants lorsqu'on emploie cette technique. Les matériaux testés doivent être aussi semblables que possible, du point de vue de leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques; ils doivent être aussi placés dans les contenants de lixiviation suivant une disposition aussi semblable que possible à celle des matériaux auxquels on les compare. On doit aussi contrôler toute déviation des conditions in situ, afin de pouvoir établir des corrélations correctes. Finalement, l'échantillonnage de l'effluent provenant des lysimètres est nécessaire pour obtenir des résultats d'analyse qui soient vraiment représentatifs des conditions expérimentales.

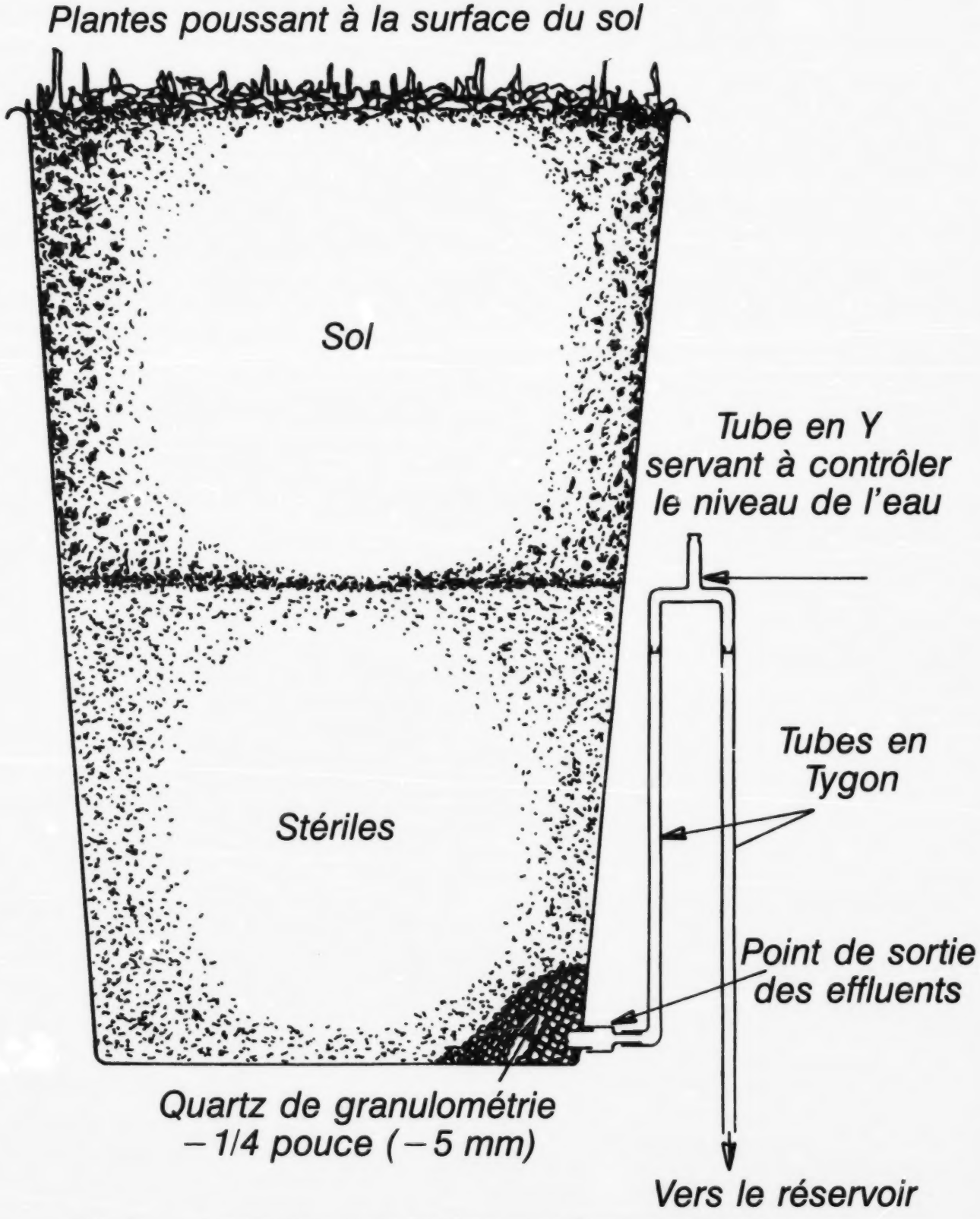

Fig. 1 - Construction d'un lysimètre peu coûteux en plastique

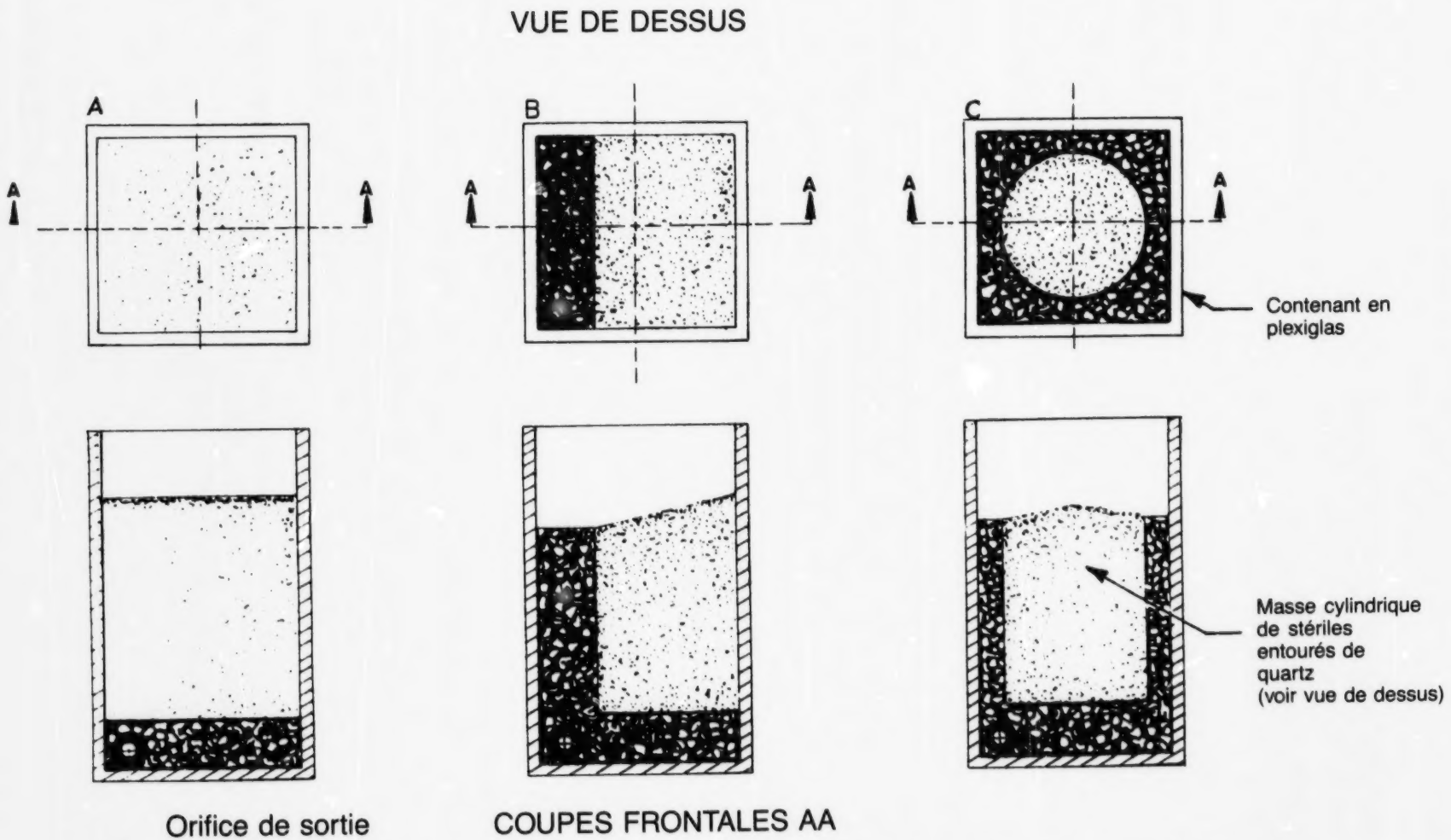

Fig. 2 - Détails de construction d'un lysimètre en plexiglas de forme carrée servant à déterminer les caractéristiques de lixiviation de stériles déposés selon diverses méthodes. Chaque lysimètre a 30 cm de côté et 63 cm de haut et comporte une base de 10 cm contenant du quartz de granulométrie -1/4 po (-5 mm). Les masses de stériles contenues dans les lysimètres sont respectivement : A-53 kg; B-39 kg; C-29 kg.

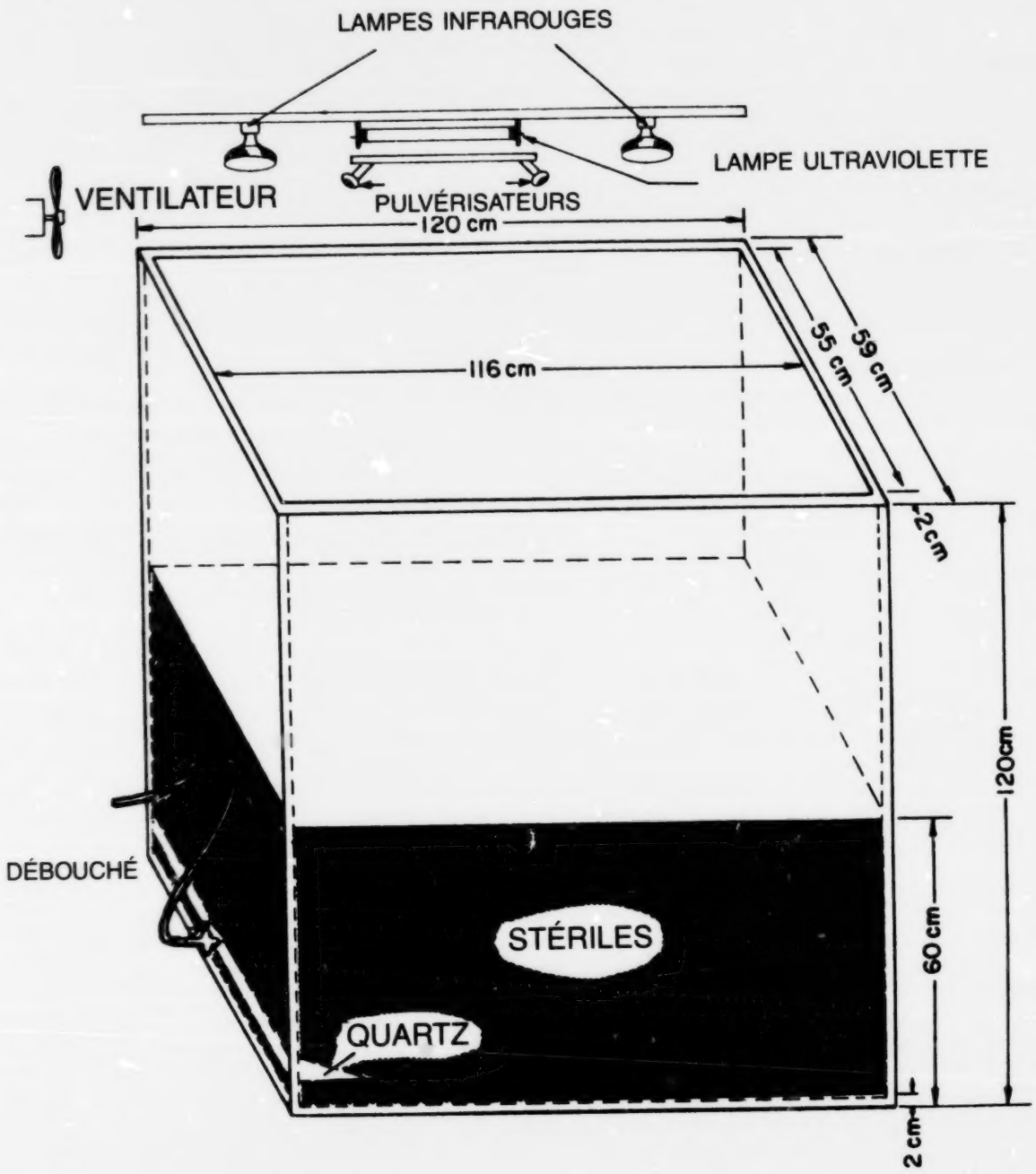

Fig. 3 - Détails de construction d'un grand lysimètre en plexiglas pouvant contenir une tonne de stériles

3.0 ÉCHANTILLONNAGE DES SOLS ET DES STÉRILES

Étant donné la grande variabilité que présente inévitablement une masse de sol donnée, on doit choisir des méthodes d'échantillonnage satisfaisantes, convenant à une situation donnée. Dans le cas d'essais de lixiviation à petite échelle, un échantillonnage effectué en double ou l'utilisation de toute la masse de sol peuvent convenir, tandis que pour effectuer des expériences à plus grande échelle et en plein air, on est parfois obligé d'employer des procédés d'échantillonnage composite. Pour qu'un échantillon composite soit valable, il faut que l'on recueille au hasard suffisamment d'échantillons individuels de même dimension en employant la même technique, qu'il n'y ait aucune interaction chimique ou physique entre les échantillons individuels et que l'échantillon composite soit homogène aux fins de l'analyse (16). Jackson (16,17), Petersen et Calvin (18), Allen et al. (19), Black (20), et l'Association des chimistes analytiques officiels (21) ont décrit en détail les méthodes d'échantillonnage des sols.

On trouve dans le commerce divers appareils d'échantillonnage des sols dont le choix dépend des propriétés physiques du sol à échantillonner et des objectifs de l'étude. Dans le cas de sols bien développés et de stériles tendres et cohérents, on peut creuser des tranchées avec une pioche pour étudier le développement des divers horizons et employer une truelle pour recueillir les échantillons. Dans le cas d'échantillons dont le volume doit être connu, on peut employer un cylindre métallique gradué pour obtenir des carottes de sol. On peut réduire au maximum le compactage des échantillons de carottes de sol en employant des échantillonneurs de grand diamètre munis d'une tête coupante détachable. On peut effectuer un échantillonnage continu des profils de sol et de stériles, jusqu'à des profondeurs ne dépassant pas 1 m, en employant des carottiers à fente ou un tuyau métallique introduit manuellement dans le sol. On peut obtenir des échantillons profonds, continus ou semi-continus jusqu'à plus de 10 m, en employant un tuyau de métal introduit dans le sol ou dans les stériles au moyen d'une tarière à tige creuse, enfoncée avec un marteau-piion. Étant donné l'hétérogénéité fréquente des stériles, la longueur de la carotte se limite à la profondeur que peut atteindre un tuyau métallique, lorsqu'on pousse simplement l'échantillon à travers les stériles. On doit alors obtenir des échantillons multiples en recueillant une profondeur limitée d'échantillon, en retirant celui-ci, en forant dans les stériles un trou de même profondeur que l'échantillon précédent et en recueillant un autre échantillon. Lorsqu'on effectue des carottages, des tuyaux en aluminium sont utiles parce qu'on peut facilement les couper avec un coupe-tuyaux pour obtenir des échantillons de volume uniforme.

On emploie souvent des tarières et des forets de type pieux pour obtenir des échantillons de sol; bien qu'ils soient faciles à utiliser, ils ne préservent pas la structure originale du sol. On échantillonne la tourbe faiblement décomposée en employant des échantillonneurs commerciaux, de type tarière, pourvus de bords très coupants; on peut échantillonner la tourbe bien humifiée en employant un instrument à piston, décrit par Tibbets (22).

4.0 ANALYSE PHYSIQUE DES SOLS ET DES STÉRILES

4.1 GRANULOMÉTRIE DES SOLS ORGANIQUES

L'analyse granulométrique d'un sol consiste à décrire la proportion des diverses tailles de particules présentes. C'est l'une des caractéristiques les plus stables des sols, puisqu'elle est très peu modifiée par le travail du sol; on l'emploie pour établir la classification texturale des sols. Étant donné que les particules de sol ne sont pas parfaitement sphériques, mais tendent à être anisométriques, différentes méthodes d'analyse donnent différents résultats analytiques. Ainsi, les résultats des mesures granulométriques doivent toujours être accompagnés de notes sur la méthode utilisée. La méthode de Dinel et Lévesque (23) convient pour étudier les sols organiques, donne des résultats reproductibles et elle est basée sur l'emploi d'un matériel (figure 4) aisément construit avec des fournitures facilement disponibles.

Placez 25 g d'échantillons de sol humide fragmentés en petits morceaux dans 300 mL d'eau distillée et agitez pendant 16 h. Déterminez le contenu en eau en séchant à 105 °C et en repesant. Remettez en suspension l'échantillon

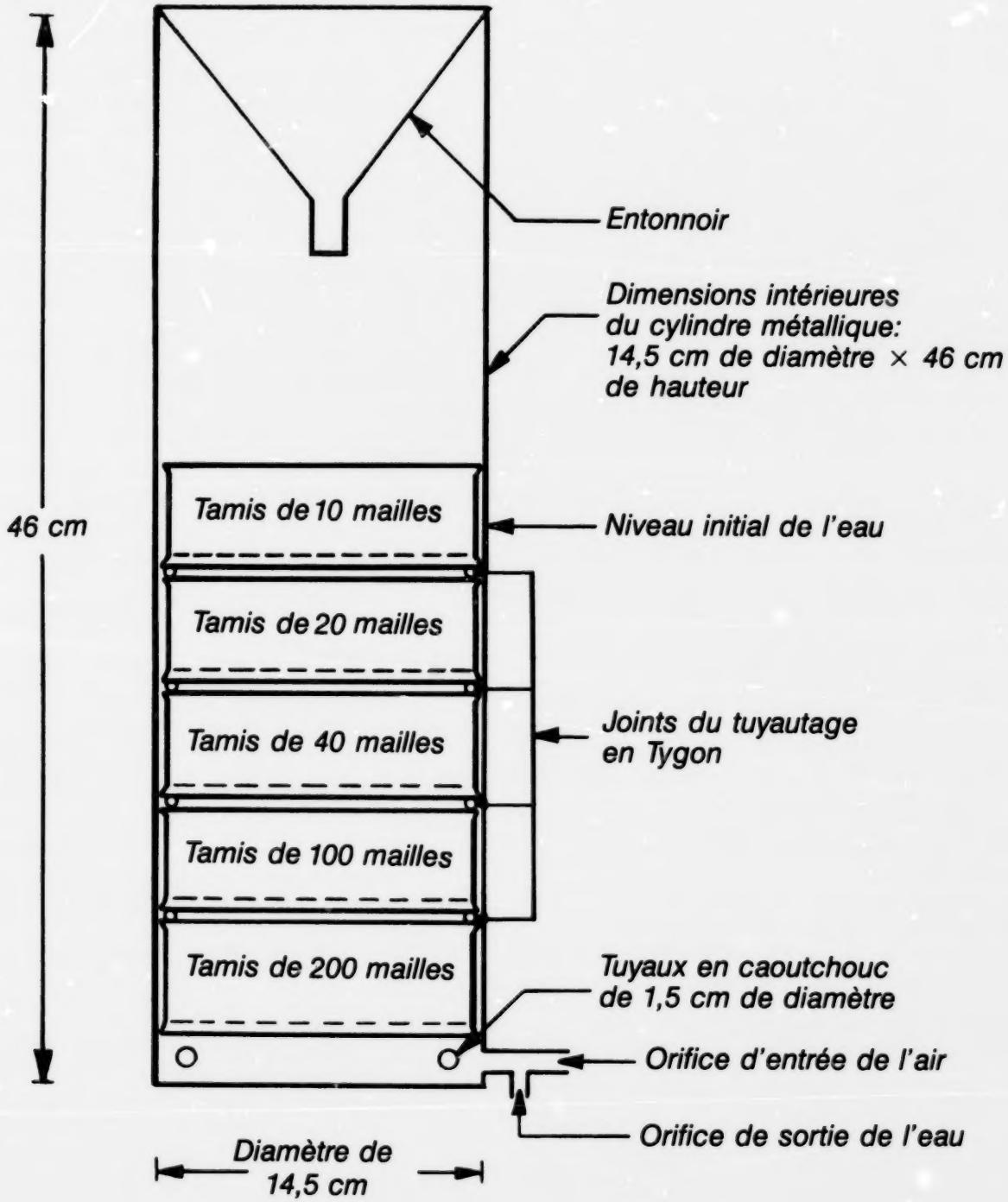

Fig. 4 - Détails de construction d'un appareil d'analyse granulométrique

dans 300 mL d'eau distillée et versez dans un tamis de 200 mailles. Rincez avec de l'eau pour enlever les particules inférieures à 200 mailles. Séchez à 105 °C et pesez. Placez le produit retenu sur le tamis supérieur d'une série de tamis de 10, 20, 40, 100 et 200 mailles, assemblés dans un cylindre, lequel comporte un trou près de sa base pour permettre l'entrée d'air et la sortie d'eau. Remplissez le cylindre avec de l'eau en dépassant un peu le niveau du tamis supérieur (de 10 mailles). Faites barboter de l'air à travers le cylindre pendant 1 h, à un rythme suffisant pour agiter l'ensemble des tamis. Enlevez ceux-ci, recueillez le produit accumulé dans chaque tamis, séchez chaque fraction granulométrique à 105 °C, et pesez-la. Calculez la proportion de chaque classe granulométrique en pourcentage du poids sec de l'échantillon total.

4.2 DEGRÉ DE DÉCOMPOSITION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DES SOLS

Les sols sont composés de matière inorganique telle que les minéraux provenant des roches environnantes et de matière organique. Cette dernière est un mélange de débris végétaux, animaux et microbiens à divers stades de décomposition et contient aussi des substances chimiquement et biologiquement synthétisées à partir des produits de décomposition (24). Le degré de décomposition de cette matière organique est important pour la classification des types de sols; il influe aussi sur la capacité des composés inorganiques à réagir avec les constituants organiques des sols et sur l'assimilabilité des éléments nutritifs par les microorganismes du sol. On peut définir le degré de décomposition des sols d'après leur contenu en fibres frottées et non frottées (25), leur degré d'humification (en déterminant la teneur en méthoxyle avec du pyrophosphate de sodium) (26) ou par un examen visuel, conformément à la méthode de von Post (27) modifiée par Nygard (28).

4.2.1 Teneur en fibres du sol non frotté

La teneur en fibres nous permet d'évaluer le degré de décomposition de la matière organique du sol. Placez ~25 mL d'un échantillon de sol humide sur une bande de papier absorbant et roulez-le en forme de cigare. Pressez légèrement pour enlever l'eau excédentaire. Enlevez l'échantillon du papier absorbant et coupez-le en cylindres de ~6 mm de long. Mélangez-le bien dans un bécher et tassez-le dans une seringue hypodermique en plastique de 5 ou 10 mL que l'on a modifiée en coupant et en enlevant la moitié de la paroi cylindrique dans le sens de la longueur, entre les graduations 0 et 5 mL (figure 5). Poussez l'échantillon dans la seringue pour libérer l'air en surplus, mais pas l'eau, exactement jusqu'à la limite de 5 mL, avec le piston de la seringue. Transportez le sol sur un tamis de 100 mailles et rincez-le avec de l'eau courante jusqu'à ce que l'eau traversant le tamis paraisse limpide sur un fond blanc. Recueillez l'échantillon, enlevez l'eau excédentaire avec du papier absorbant, puis transportez-le dans la seringue modifiée. Tassez l'échantillon autant que possible en poussant simultanément le piston de la serigue et en nivelant la surface avec une spatule; assurez-vous que la teneur en eau est la même que celle de l'échantillon initial. Notez le volume d'échantillon placé dans la seringue et déterminez la proportion de fibres non frottées, en pourcentage du volume initial (5 mL).

4.2.2 Teneur en fibres du sol frotté

Transportez l'échantillon de fibres non frottées dans un tamis de 100 mailles, puis frottez-le légèrement entre le pouce et les doigts sous un jet d'eau, jusqu'à ce que l'eau traversant le tamis paraisse limpide sur un fond blanc. Continuez jusqu'à ce que les fibres roulent entre le pouce et les doigts comme des fragments de ficelle sans glisser ou s'étaler. Recueillez et séchez l'échantillon dans un papier absorbant. Transportez l'échantillon dans la seringue modifiée et tassez le autant que possible en poussant simultanément le piston de la seringue et en nivelant la surface avec une spatule, tout en vous assurant que la teneur en eau est la même que celle de l'échantillon initial. Notez le volume de l'échantillon dans la seringue et déterminez la proportion de fibres frottées en pourcentage du volume initial (5 mL).

4.2.3 Indice au pyrophosphate

L'indice de solubilité du pyrophosphate de sodium permet d'évaluer le degré d'humification d'un sol organique. À 0,5 g de sol séché placé dans une

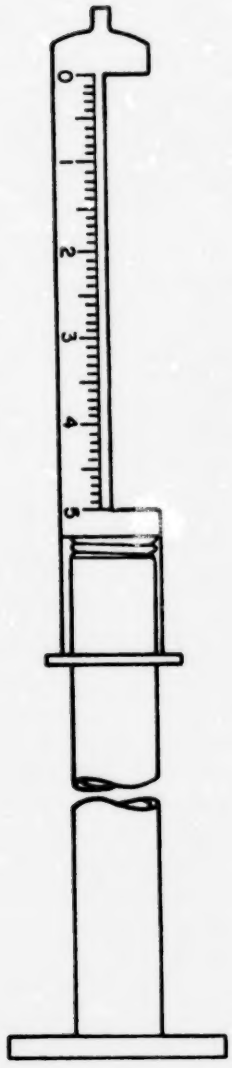

Fig. 5 - Seringue hypodermique modifiée, en plastique, servant à déterminer la teneur en fibres du sol

fiole d'Erlenmeyer de 125 mL, ajoutez 50 mL de pyrophosphate de sodium de titre 0,025 M (préparé dans de l'eau distillée) et agitez pendant 18 h. Filtrez à travers un papier filtre Whatman 2V préalablement plissé, diluez à 1/4 avec de l'eau distillée, mélangez et déterminez la densité optique à 550 nanomètres. Calculez l'indice au pyrophosphate en multipliant la densité optique par 100.

4.2.4 Degré de décomposition de la tourbe

La modification apportée par Nygard (27) à la méthode de von Post (28) concerne le degré de décomposition de la tourbe. La classification de Nygard définit cinq catégories, contrairement à celle de von Post, qui en contient 10. On détermine les classes en pressant manuellement une poignée de matière organique humide, puis en observant le matériau et le liquide exprimés. Les cinq étapes de décomposition que distingue cette méthode sont:

a) Très faiblement décomposé - tourbe non décomposée à très faiblement décomposée. Le liquide exprimé est clair, incolore à légèrement trouble; aucune substance tourbeuse ne s'écoule entre les doigts; la structure végétale est intacte.

b) Faiblement décomposé - tourbe légèrement décomposée. Le liquide est très trouble; un peu de tourbe s'écoule entre les doigts; la structure végétale est facilement identifiable.

c) Modérément décomposé - tourbe médiocrement à moyennement décomposée. Le liquide est très trouble; environ un tiers de la substance tourbeuse glisse entre les doigts; le résidu est bourbeux et friable; la structure végétale est facilement identifiable.

d) Fortement décomposé - tourbe bien décomposée. Une proportion comprise entre la moitié et les deux tiers de la substance tourbeuse passe entre les doigts comme une bouillie; le résidu est friable; la structure végétale est facilement identifiée dans les fragments plus résistants.

e) Très fortement décomposé - résidu boueux provenant de la tourbe presque entièrement décomposée; aucune structure végétale n'est identifiable. Presque tout le matériau glisse entre les doigts comme de la bouillie.

4.3 DENSITÉ APPARENTE

La densité apparente (D_b) d'un sol est le rapport masse/volume d'un échantillon séché au four. Elle permet de convertir la teneur en eau, en fonction du rapport poids/pourcentage volumétrique; pour calculer la porosité et pour estimer le poids de très grands volumes de sol. Les méthodes les plus couramment employées pour mesurer la densité apparente d'un sol sont les méthodes des "mottes" et des "carottes". Bien que la méthode des mottes donne généralement des valeurs de la densité apparente plus élevées dans les sols faiblement compactés, elle convient à une grande variété de sols, y compris les sols cimentés ou pierreux. L'une des méthodes les plus pratiques est celle de Brasher et al. (29), décrite par Sheldrick (25), parce qu'elle n'exige pas l'emploi d'un matériel spécialisé. Elle est basée sur le principe d'Archimède: on calcule la densité d'une masse de sol d'après la différence de poids enregistrée lorsque cette masse est pesée dans l'air et pesée dans l'eau. On exprime la densité apparente en grammes par centimètre cube. En multipliant par 62,4, on convertit cette expression en livres par pied cube.

À des mottes de sol d'un volume de 50 à 200 mL chacune, on attache un fil de nylon pesé et une étiquette d'identification (W1). Plongez l'échantillon (à l'intérieur d'une hotte aspirante) dans du Saran (résine Dow Saran 310: méthyle éthyle cétone (1:8)), retirez-le rapidement et laissez-le sécher pendant 30 min. Pesez (W2). Répétez ce procédé d'enrobage jusqu'à ce qu'une couche mince et continue de résine se forme à la surface de la motte, puis notez le nombre d'enrobages (N). Pesez l'échantillon dans l'air (W3) et dans l'eau (W4). Séchez à l'étuve la motte pendant trois jours, en augmentant progressivement la température de 50 °C à 105 °C. Laissez refroidir à la température ambiante et pesez (W5). Soumettez la motte à un nouvel enrobage en la plongeant

plusieurs fois, comme précédemment, dans le mélange Saran: méthyle éthyle cétone, laissez sécher pendant 30 min., puis pesez dans l'air (W6) et dans l'eau (W7). Fragmentez la motte et séparez tout produit plus gros que 2 mm, en le filtrant avec un tamis de 10 mailles. Rincez les produits grossiers sur le tamis avec de l'eau, pesez et séchez (W8). Déterminez le volume de produit grossier (W9) en mesurant le déplacement d'eau dans un cylindre gradué.

Calcul 1. Poids et volumes des enrobages de Saran appliqués avant le séchage à l'étuve

Poids du produit séché dans l'air = Éq. 6

$$A1 = \frac{W3-W2}{N-1} + W3-W2$$

Poids du produit séché à l'étuve = A2 = 0,9 A1 Éq. 7

Volume du produit séché à l'air = V1 = $\frac{A2}{1,3}$ Éq. 8

Volume du produit séché à l'étuve = V2 = $\frac{A2}{1,3}$ Éq. 9

Calcul 2. Poids et volumes des enrobages de Saran appliqués après le séchage à l'étuve

Poids du produit séché dans l'air = A3 = W6-W5 Éq. 10

Volume du produit séché dans l'air = W3 = $\frac{A3}{1,3}$ Éq. 11

Calcul 3. Poids net des mottes, avec déduction des poids du Saran et du fil de nylon

Avec humidité au champ = A4 = W3-A1-W1 Éq. 12

Séché à l'étuve = A5 = W5-A2-W1 Éq. 13

Calcul 4. Volume net des mottes, avec déduction du volume de Saran

Avec humidité au champ = V4 = W3-W4-V1 Éq. 14

Séché à l'étuve = V5 = W6-W7-V2-V3 Éq. 15

Calcul 5. Densité apparente

Avec humidité au champ = Dbm = $\frac{A5}{V4}$ Éq. 16

Séché à l'étuve = Dbod = $\frac{A5}{V5}$ Éq. 17

Calcul 6. Humidité au champ (contenu en eau)

Pourcentage pondéral = Mc = $\frac{A4-A5}{A5}$ x 100 Éq. 18

Pourcentage volumétrique = Mc x Dbm Éq. 19

Calcul 7. Densité apparente des mottes, avec déduction du contenu en fragments grossiers

Avec humidité au champ = Dbm(c) = $\frac{A5-W8}{V4-W9}$ Éq. 20

Séché à l'étuve = Dbod(c) = $\frac{A5-W8}{V5-W9}$ Éq. 21

4.4 DISPONIBILITÉ DE L'EAU

La quantité d'eau utilisable pour la croissance des plantes est directement liée à la capacité du sol à absorber et à retenir l'eau. La méthode de détermination de la teneur en eau est une simple comparaison gravimétrique entre le sol frais et le sol séché à l'étuve, telle que décrite par Sheldrick (25). On détermine le contenu en eau utilisable en calculant la différence entre la capacité de rétention d'eau au champ et la teneur en eau au point de flétrissement, c'est-à-dire la différence entre la limite supérieure et la limite inférieure du contenu en eau utilisable. On détermine la capacité de rétention d'eau au champ dans les sols sableux légers, à 1/10 bar (1,5 psi) et dans les sols plus lourds, comme les loams argileux, à 1/3 bar (5 psi). On peut mesurer la capacité de rétention d'eau au champ par un simple procédé qui permet de déterminer le poids d'eau retenu par un échantillon de sol séché à l'étuve, conformément à une méthode suggérée par K.C. Ivanson (30). On détermine la capacité de rétention d'eau par la méthode de Richards (31), telle que décrite par Sheldrick (25); on emploie un

appareil à plaque de pression, disponible dans le commerce (figure 6), comme celui fabriqué par la compagnie Soilmoisture Equipment Co., à Santa Barbara en Californie.

4.4.1 Teneur en eau

On peut déterminer le contenu en eau par unité de masse, sans déterminer la densité apparente du sol; toutefois, pour connaître le contenu en eau par unité de volume, on doit déterminer la densité apparente (paragraphe 4.3, calcul 5).

Dans un récipient de pesée taré (par exemple un bécher (W1)), on ajoute un échantillon de sol humide que l'on pèse (W2). On chauffe l'ensemble à 105 °C pendant trois jours, on le laisse refroidir dans un dessiccateur et on le repèse (W3). On calcule le pourcentage pondéral d'eau (θ_w) en employant la formule:

$$\theta_w = \frac{W2-W3}{W3-W1} \times 100 \qquad \text{Éq. 22}$$

ou bien on calcule le volume d'eau présent (θ_v) en employant la formule:

$$\theta_v = \theta_w \times Dbm \qquad \text{Éq. 23}$$

4.4.2 Capacité de rétention d'eau

La méthode décrite représente une simplification du procédé beaucoup plus complexe qui consiste à déterminer les courbes de désorption de l'eau du sol d'après la tension de cette eau. Placez ~5 mL d'un échantillon de sol humide dans une bague de retenue en métal, caoutchouc ou plastique (de 1 cm de haut et de 4 cm de diamètre); placez la bague sur une plaque de céramique poreuse munie d'une membrane en plastique. Placez la plaque dans un contenant d'eau de sorte que l'échantillon absorbe l'eau par capillarité. Recouvrez d'une feuille de plastique et laissez reposer pendant approximativement 18 h. Enlevez l'eau en surplus, placez la plaque dans un filtre à pression et appliquez une pression de 1, 4 ou 15 atmosphères (15, 60 ou 225 psi) pendant 24 h. Exercez une pression différentielle de 4 psi au-dessus des échantillons jusqu'à ce qu'il n'en sorte plus d'eau (6-10 jours), retirez les échantillons, transportez-les dans des béchers tarés (W1) et effectuez la pesée (W2). Séchez-les à l'étuve à 105 °C pendant trois jours et repesez-les (W3). Calculez le contenu en eau sous forme de pourcentage pondéral du sol séché à l'étuve, selon la formule:

$$\text{Capacité de rétention d'eau à X atmosphères} = \frac{W2-W3}{W2-W1} \times 100 \qquad \text{Éq. 24}$$

On détermine la capacité de rétention au point de flétrissement sous une pression de 15 atmosphères.

4.4.3 Capacité de rétention d'eau au champ

La capacité de rétention d'eau au champ d'un sol est la teneur en eau d'un sol saturé, à la pression atmosphérique.

Placez un papier filtre dans un entonnoir conique et humectez ce papier filtre avec de l'eau jusqu'à saturation. Ajoutez 100 g (pesés précisément) (W1) de sol séché à l'étuve (séché à 105 °C pendant trois jours) dans l'entonnoir. Mesurez ou pesez précisément 1 L (1000 g) d'eau, faites passer l'eau à travers le sol et récupérez l'éluat dans une fiole tarée (W2). Versez cet éluat à travers le sol encore trois fois ou jusqu'à ce que l'eau ne soit plus absorbée. Mesurez précisément le volume d'éluat par pesée (W3) et calculez la capacité de rétention d'eau au champ selon l'équation:

$$\text{Capacité de rétention d'eau au champ, \%} = \frac{1000 - (W3-W2)}{W1} \times 100 \qquad \text{Éq. 25}$$

4.5 RAPPORT CARBONE-AZOTE

Le rapport des teneurs en carbone et azote du sol est important pour la classification de la fertilité du sol. Les rapports C:A se situent entre moins de 10 dans les sols très riches à plus de 50 dans les tourbières hautes, pauvres en azote. L'azote n'est pas limitatif aux rapports C:A inférieurs à 10, qui est la valeur du rapport moyen C:A des cellules microbiennes. Aux rapports C:A plus élevés, la vitesse de décomposition des composés du carbone est liée à l'apport d'azote exogène.

On détermine le rapport carbone/azote d'un sol en mesurant le carbone total et l'azote total du sol. La meilleure façon d'analyser le carbone est d'employer un four à induction (LECO).

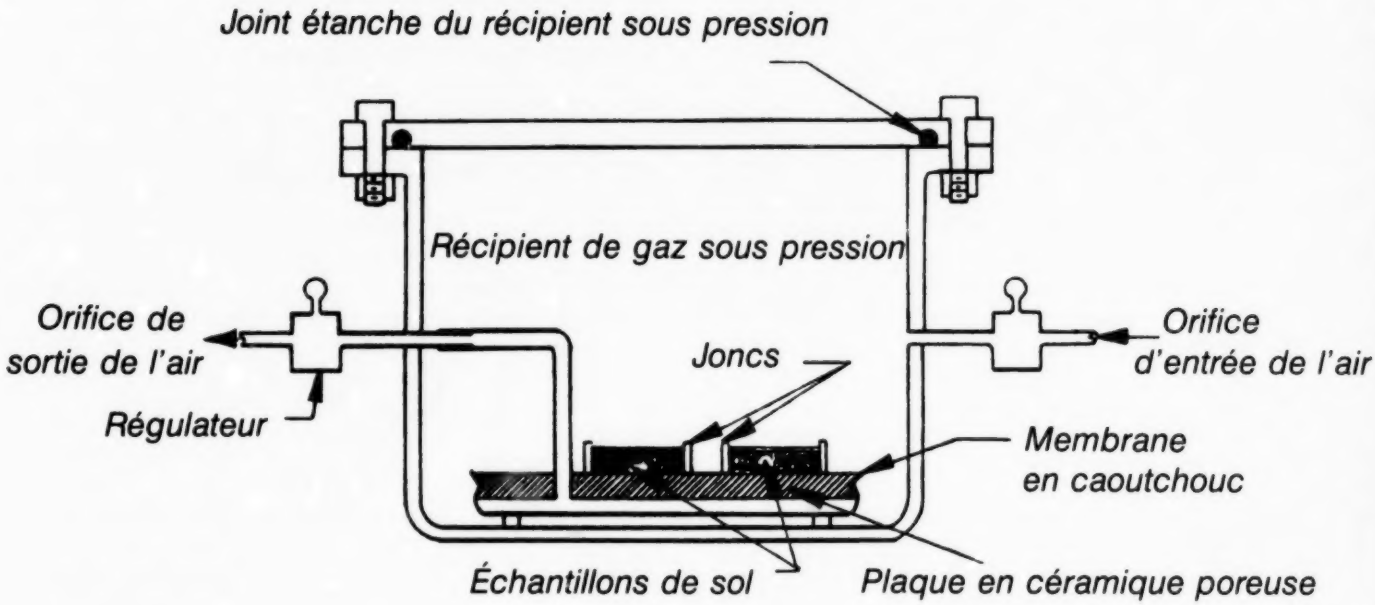

Fig. 6 - Appareil à plaques de pression permettant de déterminer la capacité de rétention d'eau des sols

L'autre méthode consiste à doser le carbone organique par réduction au bichromate de potassium, soit par titrage avec du sulfate ferreux (25), soit par colorimétrie (32).

4.5.1 Dosage du carbone organique total au moyen de l'oxydation par voie humide et du titrage du sulfate ferreux

À 0,1-2 g d'échantillons de sol fragmentés, séchés et placés dans une fiole de 1 L, ajoutez 10 mL d'une solution 0,1 N de bichromate de potassium que l'on a préparée en dissolvant 49,04 g de $K_2Cr_2O_7$ préalablement séché pendant 1 h à 105 °C dans 1 L d'eau distillée. Dans une hotte aspirante, ajoutez 20 mL d'acide sulfurique concentré (> 96 %), en agitant vigoureusement le tout avec un agitateur magnétique. Mélangez en agitant et en tournant le flacon manuellement pendant 1 min et laissez reposer sur une feuille d'amiante pendant 30 min. Si la solution est de couleur verte, ajoutez 1 mL de la solution de bichromate de potassium et des portions de 2 mL de H_2SO_4 concentré jusqu'à ce que la couleur verte disparaisse. Notez le volume de bichromate de potassium ajouté (A). Ajoutez 500 mL d'eau distillée, 10 mL d'acide phosphorique à 85 % (H_3PO_4) et 1 mL de diphénylamine sulfonate de baryum à 0,16 %, utilisée comme indicateur de virage et dissoute dans de l'eau distillée. Agitez avec un agitateur magnétique, puis titrez rapidement au moyen d'une burette contenant du sulfate ferreux normalisé de titre 0,5 N, dissous dans de l'acide sulfurique à 4 %, jusqu'à ce que le liquide que contient le bécher devienne violet ou bleu. Continuez lentement le titrage jusqu'à ce que la solution vire au vert et notez le volume de solution de titrage utilisé (B).

On détermine la normalité vraie de la solution de titrage (N) en titrant 10 mL d'une solution étalon 1 N de $K_2Cr_2O_7$ dans 500 mL d'eau distillée, 10 mL d'acide phosphorique à 85 %, et 1 mL de l'indicateur diphénylamine sulfonate de baryum à 0,16 %, avec la solution de sulfate ferreux. On calcule la teneur en carbone organique de l'échantillon en divisant le nombre de mL de bichromate réduit par le poids de l'échantillon (W) exprimé en grammes, et en multipliant le résultat par le facteur empirique 0,4 conformément à l'équation:

$$\% \text{ de Carbone organique dans l'échantillon} = \frac{A-(BN)}{W} \times 0,4 \qquad \text{Éq. 26}$$

$$\% \text{ de Matière organique totale} = \% \text{ de carbone organique} \times 1,732 \qquad \text{Éq. 27}$$

Si l'on doit utiliser plus de 16 mL de solution de titrage pour déterminer la quantité de bichromate non réduit, on doit réduire la dimension de l'échantillon initial et répéter l'opération.

4.5.2 Dosage colorimétrique du carbone total

À un échantillon de sol séché d'un poids de 2 à 10 mg (mesuré avec précision) placé dans 2 mL d'eau distillée, ajoutez 5 mL d'une solution de bichromate (préparée en dissolvant 5 g de bichromate de sodium dans 20 mL d'eau distillée et en diluant jusqu'à 1 L avec de l'acide sulfurique concentré). Pour compenser la teinte donnée par l'échantillon de sol, préparez un blanc en ajoutant 5 mL d'acide sulfurique concentré à une masse identique d'un échantillon de sol séché, placé dans 2 mL d'eau distillée. On chauffe les blancs et les échantillons dans un bain d'eau bouillante pendant 20 min, on laisse refroidir à la température ambiante et l'on détermine la densité optique (D.O.) à 660 nanomètres au moyen d'un spectrophotomètre ou d'un colorimètre équipé d'un filtre rouge. On détermine la concentration de carbone dans l'échantillon en soustrayant la densité optique de l'échantillon de la densité optique du blanc; on compare ensuite la D.O. résultante à une courbe normalisée que l'on a préparée en employant des solutions de sucre anhydre (c.-à-d. dextrose) contenant 0,5 à 1 mg de carbone par 2 mL.

4.5.3 Dosage de l'azote organique

On peut doser l'azote organique soit par nessérisation directe, soit par distillation suivie d'un titrage. La seconde méthode est plus précise parce qu'on utilise des volumes plus importants et que l'on diminue ainsi le facteur de rapport des volumes (33). Pesez exactement 1 à 5 g d'un échantillon de sol séché (A) et placez-le dans une fiole de Kjeldahl de 500 mL. Ajoutez 20 mL

de H_2SO_4 concentré, 13,4 g de K_2SO_4 et 3 mL d'une solution de sulfate mercurique (8 g d'oxyde mercurique (HgO) dissous dans 50 mL d'acide sulfurique à 16 % et dilués jusqu'à 100 mL avec de l'eau distillée). Mélangez parfaitement et laissez s'effectuer la digestion par ébullition jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'écume; laissez encore bouillir pendant 30 min après l'éclaircissement du liquide. Laissez refroidir et diluez jusqu'à 350 mL avec de l'eau (distillée) exempte d'ammoniaque. Ajoutez l'indicateur phénolphtaléine disodique (à 0,5 % dans de l'eau distillée, ou à 0,5 % dans de l'alcool éthylique à 50 % ou dans de l'alcool isopropylique); ajoutez aussi une solution d'hydroxyde de sodium - thiosulfate de sodium [500 g de NaOH et 25 g de $Na_2S_2O_3.5H_2O$ dans 1 L (volume final) d'eau distillée] jusqu'à un début d'alcalinité. Distillez dans 50 mL d'une solution d'acide borique indicatrice [20 g de H_3BO_3 dissous dans 100 mL d'eau et 10 mL d'indicateur mixte (2 volumes de rouge de méthyle à 0,2 % dans de l'alcool éthylique à 95 %, plus 1 volume de bleu de méthylène à 0,2 % dans de l'alcool éthylique à 95 %) dilués jusqu'à 1 L avec de l'eau distillée], l'extrémité du réfrigérant restant au-dessous de la surface de la solution d'acide borique jusqu'à ce que soient recueillis à peu près 200 mL de distillat. Titrez avec une solution 0,02 N de H_2SO_4 jusqu'à ce que l'indicateur prenne une couleur lavende pâle (B). Répétez le titrage sur un blanc contenant un volume identique de la solution d'acide borique indicatrice, diluée jusqu'à 250 mL avec de l'eau distillée (C). Calculez le pourcentage d'azote dans l'échantillon en employant l'équation :

$$\% \text{ d'azote dans l'échantillon} = \frac{(B-C) \times 0,028}{A} \quad \text{Éq. 28}$$

On détermine le rapport carbone/azote en calculant le rapport du pourcentage de carbone dans l'échantillon, au pourcentage d'azote dans cet échantillon.

4.5.4 Perte au feu

La perte de poids d'un échantillon chauffé à 550 °C est approximativement égale à la quantité totale de matière organique présente dans l'échantillon et n'inclut pas l'eau de structure ou les carbonates (25). Dans un creuset taré en porcelaine ou en Vycor ajoutez 1 à 10 g d'un échantillon passé à travers un tamis à ouverture de maille de 2 mm (10 mailles). Séchez pendant ~18 h à 105 °C, et pesez pour déterminer le poids de l'échantillon séché au four (A). Placez le creuset contenant l'échantillon dans un four à moufle. Montez lentement la chaleur (~2 °C/min) jusqu'à 550 °C et maintenez à cette température pendant approximativement 18 h. Enlever le creuset, laissez-le refroidir dans un dessicateur, puis sortez-le et pesez-le (B). Calculez la perte au feu à 550 °C en utilisant l'équation:

$$\% \text{ de perte au feu (550 °C)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad \text{Éq. 29}$$

La perte au feu à 550 °C est pratiquement équivalente à toute la quantité de matière organique que contient l'échantillon, mais peut aussi inclure quelques-uns des minéraux sulfurés complexes plus volatiles. Le résidu contient la majeure partie de l'eau de structure et pratiquement la totalité du contenu en minéraux.

4.6 CAPACITÉ D'ÉCHANGE CATIONIQUE

On peut déterminer la capacité d'un sol à emmagasiner des cations, qui peuvent être libérés et ensuite utilisés par des plantes et des microorganismes, en mesurant la capacité d'échange cationique. L'échange cationique est une réaction réversible dans laquelle les cations associés aux minéraux du sol et à la matière organique sont remplacés de façon réversible par les cations provenant de solutions salines et acides. On peut employer les sels d'ammonium, de baryum, de calcium, de potassium ou de sodium pour déterminer la capacité d'échange cationique des sols. L'Association des chimistes analytiques officiels (Association of Official Analytical Chemists) (21) recommande l'emploi du baryum parce que celui-ci réagit de façon plus complète avec les cations échangeables, y compris l'hydrogène et l'aluminium. On dose de façon plus précise les sols contenant des concentrations élevées de matière organique, de minéraux argileux et de calcite avec l'acétate de baryum plutôt qu'avec l'acétate d'ammonium, puisque l'ammonium peut être capturé par les minéraux argileux comme la vermiculite, être

absorbé par la matière organique du sol ou être métabolisé par les microorganismes du sol. On présente ci-dessous la méthode décrite par Sheldrick (25).

Cette méthode de détermination de la capacité d'échange cationique des sols, qui consiste à titrer l'acétate de baryum avec de l'hydroxyde de sodium, n'exige pas que l'on emploie la spectrophotométrie d'absorption atomique et peut être utilisée sur des sols contenant des concentrations appréciables de sodium, de calcium et de magnésium.

Ajoutez de 0,5 à 2 g de sol séché, pesé de façon précise (A), dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 mL; ajoutez 50 mL de 0,5 N HCl, scellez les fioles avec du Parafilm et agitez pendant 30 min. Filtrez à travers un papier filtre Whatman #41 dans un grand entonnoir, puis rincez avec de l'eau jusqu'à ce que tous les chlorures aient disparu de l'échantillon de sol, c'est-à-dire jusqu'à ce que les échantillons de 1 mL ne se troublent plus lorsqu'on les ajoute à 0,1 mL d'une solution de nitrate d'argent à 1 %. Jetez le filtrat. Percez un trou dans le papier filtre et lavez l'échantillon dans une fiole en employant exactement 100 mL d'acétate de baryum de titre 0,5 N (63,86 mL d'acétate de baryum dans 1 L d'eau distillée). Agitez la fiole pendant 15 min et filtrez le produit à travers un papier filtre Whatman # 41 dans une fiole d'Erlenmeyer. Rincez l'échantillon avec trois portions successives de 100 mL d'eau distillée et ajoutez au filtrat. Ajoutez 0,3 mL de phénolphtaléine (phénolphtaléine à 1 % dans de l'alcool éthylique à 95 %) et titrez jusqu'à obtenir une couleur rose avec une solution 0,1 N NaOH, dont la normalité exacte (N) a préalablement été déterminée par titrage de 10 mL d'une solution 0,1 N de phtalate de potassium. Notez le volume de solution de titrage utilisé (B). Calculez la capacité d'échange cationique en milliéquivalents par 100 g, conformément à l'équation:

$$\text{CEC (meq/100 g)} = \frac{BN}{A} \times 100 \qquad \text{Éq. 30}$$

4.7 pH

L'activité de l'ion hydrogène ou pH est l'une des plus importantes propriétés chimiques d'un sol du point de vue de la croissance des plantes (16). En raison de sa précision et de son aspect pratique, on mesure le pH avec des pH-mètres équipés d'électrodes de verre, que l'on peut se procurer partout. Les valeurs du pH du sol varient avec les méthodes de préparation de l'échantillon, avec la teneur en eau, en sels et en CO_2, et avec les variations normales d'un échantillon à l'autre. Ainsi, on doit préciser ces facteurs lorsqu'on indique les valeurs du pH. La dilution de la plupart des sols, d'une pâte épaisse à une suspension 1:10 (rapport sol:eau) fait monter les valeurs du pH de 0,2 à 0,5 unités de pH, mais on a observé des augmentations de plus d'une unité dans certains sols alcalins. La détermination des valeurs du pH à un taux de dilution de 1:10 présente l'avantage de faire disparaître l'effet d'interférence dû à la capacité d'échange cationique, surtout dans les sols saturés en sodium; on appelle les valeurs du pH déterminées à un taux de dilution de 1:10 (sol:eau) valeurs hydrolytiques du pH. Toutefois, le plus souvent, on détermine le pH du sol dans des suspensions de type 1:2 (sol:eau). On peut éliminer l'interférence résultant de la variabilité de la teneur saline des sols en déterminant le pH de sols mis en suspension dans des solutions salines. Toutefois, les valeurs du pH de certains sols mesurées dans une solution 1 N de KCl peuvent diminuer de 2 unités de pH; les valeurs du pH mesurées dans une solution 0,01 M de $CaCl_2$ sont toujours d'environ 0,5 unité de pH plus basses que celles mesurées dans l'eau.

Pour mesurer le pH d'un sol, ajoutez suffisamment d'eau à un échantillon simple de sol ou à un échantillon composite de sol pour obtenir le coefficient sol:eau désiré. Agitez pendant au moins 1 h et déterminez la valeur du pH avec un pH-mètre à électrode de verre.

4.8 POROSITÉ

La porosité d'un sol influe sur le déplacement des liquides et des gaz, sur le développement du système radiculaire des plantes, sur la résistance mécanique du sol et sur les transferts thermiques. Dans le cas de matériaux n'absorbant pas l'eau, comme les résines d'échange ionique ou les stériles, on peut déterminer le volume poreux en pesant la quantité d'eau qui occupe les volumes interstitiels du matériau expérimental contenu dans une colonne (34). Dans le cas de matériaux

tels que des sols humifiés absorbant l'eau, on détermine la porosité (pourcentage du volume d'ensemble non occupé par des solides) en calculant la différence entre la densité apparente du sol et la densité des particules le composant, exprimée en pourcentage de la densité des particules. Vomocil (35) décrit les procédés employés pour déterminer la porosité des échantillons de sol.

4.8.1 Porosité d'un échantillon de stériles

On peut déterminer le volume des pores d'un volume donné (V) d'un échantillon de stériles ou d'un échantillon de matériau n'absorbant pas l'eau, en bourrant une colonne de verre avec un volume connu du matériau, puis en ajoutant de l'eau jusqu'à ce que le niveau coïncide avec la surface supérieure de ce matériau. On draine l'eau dans un bécher taré et l'on récupère l'eau restante en faisant circuler de l'air à travers la colonne. On détermine la quantité d'eau récupérée par pesée (A). On détermine ensuite la porosité en employant l'équation:

$$\% \text{ de Volume poreux} = \frac{A}{V \times 0{,}95} \times 100 \qquad \text{Éq. 31}$$

en déduisant la quantité d'eau absorbée à la surface des particules.

4.8.2 Porosité d'un échantillon de sol

Pour déterminer la porosité d'un échantillon absorbant de l'eau, on doit connaître à la fois la valeur de la densité apparente et celle de la densité moyenne des particules. On détermine la densité apparente comme décrit à la section 4.3. On détermine la densité des particules par la méthode de Blake (20).

Dans une fiole volumétrique tarée de 100 mL (W1), versez approximativement 50 g d'un échantillon de sol, et refaites une pesée (W2). Soustrayez la teneur en eau de l'échantillon, déterminée par séchage à 105 °C d'un échantillon en double pendant trois jours (W3). Ajoutez de l'eau distillée, en veillant à ce que tout l'air piégé soit expulsé par réchauffement léger, laissez refroidir, et ajustez le niveau de l'eau jusqu'à la graduation. Pesez (W4) et notez la température du contenu. Jetez le contenu de la fiole, rincez, remplissez à nouveau d'eau distillée, et pesez (W5). Calculez la densité des particules (D_p) en g/cm^3, en employant la formule:

$$D_p = \frac{d_w (W2-W3-W1)}{(W2-W3-W1) - (W4-W5)} \qquad \text{Éq. 32}$$

où d_w est la densité de l'eau à la température observée.

On calcule la porosité (S_t), pourcentage du volume d'ensemble ne comportant pas de solides, suivant la formule (35):

$$S_t = \frac{D_p - D_b}{D_p} \times 100 \qquad \text{Éq. 33}$$

5.0 MICROBIOLOGIE DES SOLS ET DES STÉRILES

Les bactéries sont présentes dans les sols et les dépôts stériles en plus grand nombre que toute autre forme de vie, bien que souvent, elles ne constituent qu'un quart de la biomasse vivante (13) en raison de leur petite taille. Étant donné ces dimensions réduites et leur fort taux de métabolisme, elles ont une grande influence sur la chimie de leur milieu, puisqu'elles décomposent la matière organique et, en même temps, transforment les constituants chimiques, organiques et inorganiques. Dans les stériles, les bactéries sont les principaux agents catalytiques de transformation des minéraux. La pyrite et les autres minéraux sulfurés sont oxydés par les bactéries ferro-oxydantes en sulfates métalliques solubles et insolubles, en acide sulfurique et en fer ferrique (1). Le fer ferrique peut oxyder les minéraux sulfurés en produisant du soufre élémentaire qui, à son tour, peut être oxydé par les bactéries thio-oxydantes en acide sulfurique. Dans un milieu anaérobie et en présence de composés organiques carbonés appropriés, les sulfates peuvent être réduits en sulfures par les bactéries réductrices des sulfates.

La dimension des populations bactériennes dépend de l'assimilabilité des éléments nutritifs, de la température, du degré d'humidité, de la teneur en gaz et du pH du milieu. Des conditions variables provoquent de grandes variations, dans le temps et dans l'espace, des populations de microorganismes du sol. En raison des diverses caractéris-

tiques nutritionnelles que manifestent les bactéries dans les sols et les stériles, on ne peut évaluer les populations de bactéries dans un seul milieu, mais on doit utiliser pour étudier chaque groupe de bactéries divers milieux et diverses conditions de culture. La méthode de culture en plaques, qui consiste à utiliser divers milieux solidifiés avec de l'agar, est le procédé que l'on emploie le plus couramment pour la numération des bactéries du sol. Pour déterminer la concentration des bactéries aérobies, on peut incuber en présence d'air des plaques d'agar préparées de cette façon; ou bien, on peut les incuber en l'absence d'air pour déterminer les concentrations de bactéries anaérobies. Quant aux bactéries qui se développent difficilement sur les milieux solides, on doit effectuer leur numération en employant une méthode de dilution, telle que l'estimation du nombre le plus probable (NPP), dans un milieu liquide approprié.

5.1 ESTIMATION DES CONCENTRATIONS DE BACTÉRIES FERRO-OXYDANTES ET THIO-OXYDANTES

L'emplacement des bactéries ferro-oxydantes dans les stériles indique les zones d'oxydation potentielle de la pyrite, et les concentrations de ces bactéries indiquent l'influence de l'environnement sur les populations de ces bactéries. On a estimé les concentrations de bactéries ferro-oxydantes par la méthode du nombre le plus probable, où l'on emploie neuf éprouvettes (37); on place des portions de boues de sols ou de stériles, ou des dilutions en série de ces suspensions, de 0,1, 1 et 10 mL, dans des tubes à essai stériles contenant 4 mL du milieu 9K à fer ferreux de Silverman et Lundgren (38), qui contient (en g/L): $(NH_4)_2SO_4$ - 3; KCl - 0,1; NaH_2PO_4 - 0,35; $MgSO_4$ - 0,5; $Ca(NO_3)_2$ - 0,01; $FeSO_4$ - 3,3; le pH de 2,5 est ajusté au moyen de H_2SO_4. On emploie une période d'incubation de trois semaines en vérifiant au bout de cinq semaines les positifs tardifs. On peut modifier le milieu de façon à ce qu'il contienne des concentrations plus faibles de $(NH_4)_2SO_4$, NaH_2PO_4 et $MgSO_4$. Pour dénombrer les bactéries thio-oxydantes, on peut employer le même milieu en remplaçant le sulfate ferreux par 1 g/L de thiosulfate de sodium et un pH initial de 6.

On peut estimer les concentrations de bactéries déterminées par la méthode NPP employant 9 éprouvettes, d'après le tableau 1.

5.2 ÉVALUATION DES POPULATIONS DE MICRO-ORGANISMES HÉTÉROTROPHES AÉROBIES ET ANAÉROBIES DANS LES STÉRILES ET LE SOL

La présence et les concentrations de bactéries hétérotrophes indiquent les zones contenant des composés organiques métabolisables. Ces composés organiques peuvent représenter des excrétions de bactéries autotrophes (19); des excrétions de plantes et d'algues (33); et des produits de décomposition de débris organiques (du sol) (39). On emploie le terme "aérobie" pour désigner les organismes capables de se développer en présence d'oxygène, et le terme "anaérobie" pour désigner les organismes capables de se développer en l'absence d'air; ces deux termes s'appliquent aux microorganismes, qu'ils soient obligatoires ou facultatifs.

On détermine la population totale de microorganismes hétérotrophes par la technique des cultures en plaques. Dans cette méthode, on emploie des milieux solides appropriés tels que de l'agar additionné d'un produit nutritif ou de l'agar additionné d'un extrait de sol, dans lesquels on place des portions de 1 mL de suspensions de sol ou de stériles (ou des dilutions en série de celles-ci), dans des boîtes stériles de Pétri. On ajoute ensuite les milieux stériles fondus à la température de 40 - 45 °C dans chaque boîte de Pétri; on agite en tournant pour distribuer uniformément les bactéries et on laisse reposer. On incube en milieu aérobie les plaques servant à la détermination des bactéries aérobies, tandis que l'on incube les plaques servant à la détermination des bactéries anaérobies dans des bocaux anaérobies. On dénombre les moisissures et levures en employant un milieu solide contenant (en g/L): glucose - 10; peptone - 5; KH_2PO_4 - 1; $MgSO_4$ - 0,5; Rose Bengale - 0,033; agar - 20, incubé dans des conditions aérobies. On dénombre les organismes aérobies fixateurs d'azote en employant un milieu solide contenant (en g/L): KH_2PO_4 - 5; $MgSO_4$ - 2; $CaSO_4$ - 1; $FeSO_4$ - 0,2; $MnSO_4$ - 0,2; MoO_3 - 0,1; KI - 0,1; mannitol - 10; agar - 20, incubé dans des conditions aérobies. On stérilise les milieux susmentionnés avant de les utiliser par traitement à l'autoclave à 121 °C pendant 20 min.

On peut déceler les bactéries réductrices des sulfates en employant une modification du milieu mise au point par Butlin et al. (40)

Tableau 1 - Détermination du nombre le plus probable, par utilisation de 9 éprouvettes contenant trois échantillons de 10 mL, trois échantillons de 1,0 mL et trois échantillons de 0,1 mL

Éprouvettes de 10-mL positifs	Éprouvettes de 1-mL positifs	Nombre le plus probable (cellules/mL) éprouvettes de 0,1 mL, positifs			
		0	1	2	3
0	0	<0,03	0,03	0,06	0,09
0	1	0,03	0,06	0,09	0,12
0	2	0,06	0,09	0,12	0,16
0	3	0,09	0,13	0,16	0,19
1	0	0,04	0,07	0,11	0,15
1	1	0,07	0,11	0,15	0,19
1	2	0,11	0,15	0,20	0,24
1	3	0,16	0,20	0,24	0,29
2	0	0,09	0,14	0,20	0,26
2	1	0,15	0,20	0,27	0,34
2	2	0,21	0,28	0,35	0,42
2	3	0,29	0,36	0,44	0,53
3	0	0,23	0,39	0,64	0,95
3	1	0,43	0,75	1,2	1,6
3	2	0,93	1,5	2,1	2,9
3	3	2,4	4,6	11,	>11,

(R.G.L. McCready, communication personnelle); le milieu modifié contient (en g/L): K_2HPO_4 - 0,5; NH_4Cl - 1; Na_2SO_3 - 0,5; Na_2SO_4 - 0,5; $CaCl_2$ - 0,1; $MgSO_4$ - 2; extrait de levure - 1; lactate de sodium (70 %) - 5 (mL); $FeSO_4$ - 0,002. On ajuste le pH à 7 avec du H_2SO_4 et l'on stérilise le milieu par filtration au lieu du traitement à l'autoclave. On incube le milieu inoculé dans des éprouvettes complètement remplies, munies d'un bouchon à vis. On peut aussi dénombrer ces bactéries en employant la méthode NPP avec 9 éprouvettes, la méthode de Hungate consistant à rouler l'éprouvette (41) ou la méthode de la culture en plaques avec incubation dans des chambres anaérobies.

On doit effectuer toutes les manipulations servant à évaluer les populations microbiennes des sols et des stériles en faisant appel à des techniques microbiologiques correctes. Tous les matériaux, milieux et réactifs doivent être stériles. On peut acheter, stérilisées préalablement et prêtes à l'usage, des boîtes de Pétri jetables, des pipettes et des pointes de pipettes mécaniques ainsi que des éprouvettes; on doit stériliser tous les autres objets en verre à l'autoclave, à une température de 121 °C pendant 30 min. On stérilise les milieux, soit à l'autoclave, soit par filtration dans des fioles stériles. On doit aussi employer des méthodes assurant la stérilité des échantillons et des milieux lorsqu'on transporte ceux-ci.

5.3 TAUX DE RESPIRATION

Le taux de respiration, qui permet de mesurer l'activité métabolique des bactéries hétérotrophes dans un échantillon de sol, est basé sur la formation et l'évolution du gaz carbonique. On capture et l'on neutralise le gaz carbonique dans une solution alcaline et l'on dose les alcalis résiduels par titrage avec de l'acide oxalique. On préfère l'emploi d'hydroxyde de baryum à celui d'autres bases parce qu'il se forme un précipité blanc et dense de carbonate de baryum qui permet de confirmer rapidement de façon visuelle le rendement du procédé de capture du gaz carbonique (42).

Déterminez la teneur en eau (paragraphe 4.4.1) et la capacité de rétention d'eau au champ (paragraphe 4.4.3) d'un échantillon de sol. Pesez précisément un échantillon de sol frais, de sorte qu'il contienne l'équivalent de 25 g de sol séché à l'étuve, et placez-le au fond d'une fiole d'Erlenmeyer de 1 ou 2 L. Ajoutez suffisamment d'eau pour amener la teneur en eau à 70 % de la capacité de rétention au champ, puis agitez en tournant de façon à ce qu'apparaisse une couche uniforme de sol au fond de la fiole. La profondeur de la couche de sol au fond de la fiole doit être d'environ 0,5 cm. On fait passer de l'air humidifié exempt de gaz carbonique à travers la fiole dans un piège à CO_2 contenant de la chaux sodée solide ou une solution de NaOH à 20 % (Figure 7). Au bout de 24 heures, faites passer l'effluent gazeux provenant de la fiole de réaction à travers trois contenants placés en série et contenant chacun 100 mL d'hydroxyde de baryum de titre 0,1 M. Lorsque la solution d'hydroxyde de baryum capture efficacement le gaz carbonique qui se dégage, le liquide des deux premiers contenants se trouble, tandis que le liquide du troisième reste limpide.

Au bout de 24 h (T), transportez et combinez la solution capturant le CO_2 dans une fiole d'Erlenmeyer de 1 L, ajoutez 1 mL de l'indicateur phénolphtaléine (préparé selon la méthode décrite au paragraphe 4.6) et titrez avec de l'acide oxalique 0,1 M normalisé par rapport à un étalon 0,1 M d'acide phtalique. On note la molarité exacte (M) et le volume de solution de titrage (V). Remplacez la solution capturant le CO_2 avec de l'hydroxyde de baryum de titre 0,1 M et répétez chaque jour pendant 3 à 10 jours. On calcule le taux de respiration suivant l'équation:

$$\text{mg } CO_3/C \text{ dégagé par gramme par heure} = \frac{30 - V\left(\frac{N}{0,1}\right)}{TW} \qquad \text{Éq. 34}$$

6.0 ANALYSE DES COMPOSÉS ORGANIQUES DANS LES SOLS ET LES STÉRILES

Les microorganismes hétérotrophes utilisent des sucres, des polymères des sucres et des acides organiques comme substrats pour leur développement, et toutes les bactéries, qu'elles soient hétérotrophes ou autotrophes, excrètent des composés organiques. Les bactéries existent dans la nature en associations symbiotiques, et les produits d'excrétion d'une espèce servent souvent de

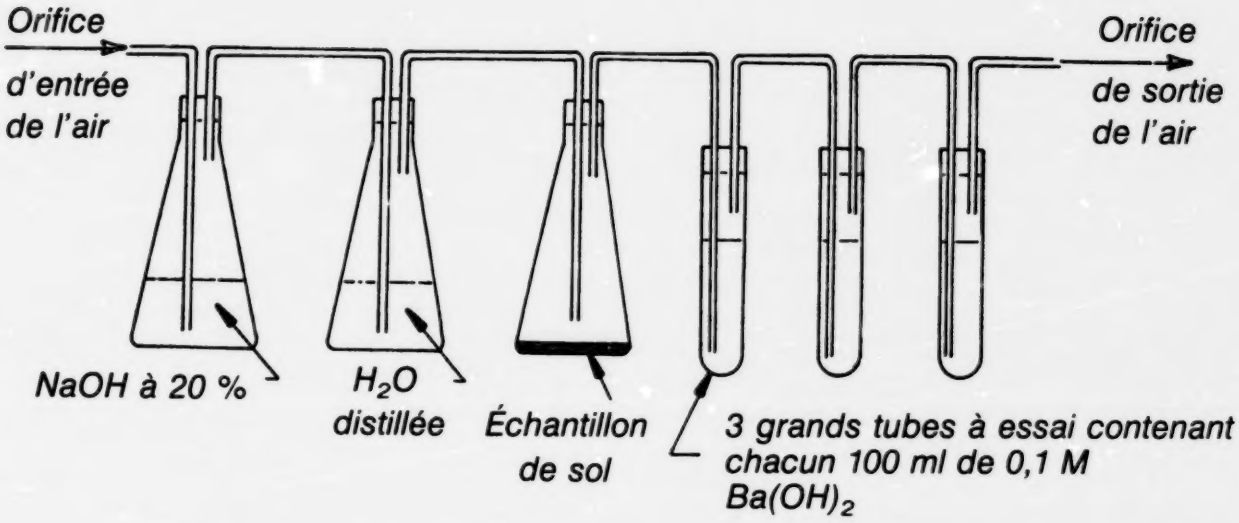

Fig. 7 - Appareil permettant de déterminer le taux de respiration des microorganismes dans un échantillon de sol

substrat pour le développement d'une autre espèce. Par exemple, les bactéries autotrophes thio-oxydantes et ferro-oxydantes utilisent le CO_2 comme source de carbone; elles consomment des composés inorganiques du soufre et du fer, y compris des minéraux comme sources d'énergie, produisent de l'acide sulfurique et excrètent des hydroxy-acides ainsi que des céto-acides comme les lactates et les pyruvates. Si ces composés migrent vers des conditions d'anaérobie, ils peuvent être métabolisés par les bactéries réductrices des sulfates qui les utilisent comme leur source de carbone et d'énergie et en même temps emploient les sulfates comme accepteur terminal d'électrons. Ainsi, la détection et la quantification des composés organiques nous aident à élucider le rôle que jouent les microorganismes dans les sols et les stériles.

6.1 GLUCIDES

On détermine la concentration totale des glucides dans les surnageants des boues de stériles ou de sols par la méthode de l'anthrone (9-oxyanthracène) que décrivent Umbreit, Burris et Stauffer (32). On place une portion de 3 mL dans une éprouvette, on ajoute 6 mL du réactif anthrone (anthrone à 0,2 % dans H_2SO_4 à 95 %) et on mélange le tout immédiatement. On place les éprouvettes dans un bain d'eau bouillante pendant 3 min, on laisse refroidir et l'on détermine la densité optique à 620 nanomètres. On dose le sucre que contient l'échantillon par comparaison entre la valeur de sa densité optique (DO) et celle d'un groupe d'étalons contenant 10 à 120 µg de glucose.

On peut identifier chacun des glucides par chromatographie sur papier, sur couches minces ou par chromatographie liquide à rendement élevé. On traite un échantillon séché de sol ou de stériles avec de la pyridine sans eau qui dissout les glucides mais non les sels et l'on applique une portion de l'extrait contenant 20 à 50 µg dans 2 à 10 µL sur du papier chromatographique Whatman #1 ou sur des plaques chromatographiques à minces couches avec cellulose microcristalline ou gel siliceux. Après les avoir séchés, on développe les chromatogrammes en employant les combinaisons de solvants appropriées. Smith (43) décrit plusieurs combinaisons de solvants que l'on peut employer pour l'analyse chromatographique des glucides sur papier. Deux des combinaisons de solvants recommandées sont les suivantes: propanol:éthyle acétate:eau (7:1:2) et isopropanol: n-butanol:eau (7:1:2). On a décrit des procédés similaires pour la chromatographie sur couches minces (44) dans lesquelles on emploie les combinaisons de solvants suivantes: acétate d'éthyle: pyridine:eau (12:5:4), isopropanol:n-butanol:eau (5:3:2) et chloroforme:acide acétique:eau (6:7:1). Pour obtenir une meilleure résolution, on peut employer la chromatographie bidimensionnelle employant deux combinaisons différentes de solvants. Pour situer les glucides individuels, on pulvérise sur les chromatogrammes secs une solution 0,1 M d'$AgNO_3$ dans 5 N NH_4OH (44).

On a décrit un système de chromatographie liquide à rendement élevé, employant de multiples colonnes d'échange ionique reliées en séries (45), dans lesquelles on peut identifier et quantifier les glucides en une seule opération.

6.2 ACIDES ORGANIQUES

Les bactéries ferro-oxydantes excrètent des pyruvates (46) qui, s'ils ne sont pas enlevés par d'autres microorganismes, inhibent l'oxydation des minéraux sulfurés (47, 48). Les pyruvates et autres acides organiques comme les lactates, propionates et acétates, peuvent être formés par catabolisme de la lignine, un polymère des unités phénylpropane, et peuvent servir de substrat à la fois aux bactéries aérobies et aux bactéries anaérobies. La détermination de leur emplacement, leur identification et leur quantification permettront d'élucider les interactions des phénomènes biologiques qui ont lieu dans les sols et les stériles. Umbreit, Burris et Stauffer (32) décrivent les méthodes colorimétriques de dosage de la totalité des céto-acides et des hydroxy-acides. On extrait ces composants des sols et stériles avec de l'eau distillée.

On détermine la concentration totale des céto-acides en employant la méthode de Friedmann et Haugen dans laquelle on incube 1 mL d'échantillon pendant 30 min avec 1 mL de 2-4 dinitrophénylhydrazine à 0,1 % dans une solution 2 N de HCl, puis on ajoute 1 mL de NaOH à 20 % et 7 mL d'eau. On détermine la densité optique à 440 nanomètres et l'on compare cette densité optique à celle d'un groupe d'étalons contenant 5 à 100 µg de pyruvate de sodium.

On dose la totalité des hydroxy-acides par la méthode de LePage en ajoutant 0,5 mL d'échantillon à 6 mL d'acide sulfurique, en mélangeant immédiatement, en chauffant dans un bain d'eau bouillante pendant 5 min, en refroidissant à la température ambiante, en ajoutant 0,05 mL (1 goutte) de $CuSO_4.5H_2O$ à 20 % et 0,05 mL (1 goutte) de p-hydroxydiphényle à 1,5 % dans du NaOH à 0,5 %, en laissant incuber pendant 30 min à 30 °C, en chauffant à 100 °C pendant 2 min et en mesurant la densité optique à 565 nanomètres. On compare ensuite la densité optique (D.O.) de chaque échantillon à celle d'un groupe d'étalons contenant 3 à 30 mg du sel de zinc de l'acide lactique.

On peut identifier les acides organiques par chromatographie sur papier ou chromatographie sur couches minces avec diverses combinaisons de solvants. Les solvants convenant à la chromatographie sur papier Whatman 54 comprennent les combinaisons butanol:formate:eau (7:3:12) ou éthanol:ammoniac:eau (20:1:4) (42); les solvants servant à la chromatographie sur couches minces, effectuée sur les plaques de gel silicieux, comprennent les combinaisons éthanol:chloroforme:ammoniaque:eau (53:30,3:15,2:1,5) ou éthanol:ammoniaque:eau (20:1:4) (49). Pour améliorer la séparation, on peut utiliser la chromatographie bidimensionnelle.

On peut déceler les acides aliphatiques, les céto-acides et hydroxy-acides sur des chromatogrammes sur papier séché et des chromatogrammes sur couches minces; pour ce faire, on vaporise sur le produit l'un des nombreux indicateurs acide/base, par exemple une solution à 0,04 % de bleu de bromophénol dans de l'éthanol dont le pH a été ajusté à 5 avec de l'acide citrique, ou du rouge de méthyle à 0,03 % dans une solution tampon de borate de sodium 0,05 N (pH 8) ou du nitrate d'argent 0,05 M dans de l'hydroxyde de sodium 0,05 N.

On peut aussi séparer et quantifier les acides organiques par chromatographie liquide à rendement élevé (50) ou par chromatographie ionique (51).

7.0 REMERCIEMENTS

L'auteur désire remercier G.M. Ritcey, D. Barkley et R.G.L. McCready (CANMET, EMR Canada); K.C. Ivarson et B.H. Sheldrick (Agriculture Canada); et A. Baweja (Environnement Canada) de leurs suggestions fort utiles et de leurs critiques constructives.

8.0 BIBLIOGRAPHIE

1. Lundgren, D.G., and Silver, M. "Ore leaching by bacteria"; Ann Rev Microbiol 34:263-283; 1980.

2. Jongejan, A. "Composting municipal wastes in the north"; Biocycle 23:50-51; 1982.

3. Davé, N.K.; Lim, T.P.; Vivyurka, A.J.; Dubrowsky, N.; Morin, K.A.; Smyth, D.J.A.; Gillham, R.W.; and Cherry, J.A. "Hydrogeochemical evolution of an inactive pyritic uranium tailings basin and retardation of contaminant migration in a surrounding aquifer"; actes du Symposium International sur la gestion des déchets d'exploitation et de traitement du minerai d'uranium; Albuquerque, Nouveau-Mexique; 10-14 mai 1982.

4. Ritcey, G.M., and Silver, M. "Simulated tailings weathering tests in lysimetres"; comptes-rendus du projet de recherche coordonnée de l'Agence Internationale de l'énergie atomique (CRP-3); Cadarache, France; Septembre 1985. Rapport de la Division MRP/MRL 85-110(OP-J); CANMET, Énergie, Mines et Ressources Canada; 1985.

5. Silver, M., and Ritcey, G.M. "Effects of iron-oxidizing bacteria and vegetation on acid generation in laboratory lysimetre tests on pyrite-containing uranium tailings"; Hydrometallurgy 15:255-264; 1985.

6. Ritcey, G.M., and Silver, M. "Lysimetre investigations on uranium tailings at CANMET"; CIM Bull 75:846:134-143; 1982.

7. Silver, M. "Water leaching characteristics of uranium tailings from Ontario and Northern Saskatchewan"; Hydrometallurgy 14:189-217; 1985.

8. McCorkell, R.H., and Silver, M. "Effect of compost and soil covers on radon emanation from uranium tailings"; rapport de la Division MRP/MSL 85-68(J); CANMET, Énergie, Mines et Ressources Canada; 1985.

9. Murray, D., and Moffett, D. "Vegetating the uranium tailings at Elliot Lake, Ontario"; J Soil and Water Conservation 32:171-174; 1977.

10. Kalin, M., and Caza, C. "An ecological approach to the assessment of vegetation cover on inactive uranium mill tailings sites"; actes du Symposium International sur la gestion des déchets d'exploitation et de traitement du minerai d'uranium (IAEA); Albuquerque, Nouveau-Mexique, U.S.A.; 10-14 mai 1982.

11. Marshall, I.B. Mining, land use, and the environment. II. A Review of Mine Reclamation Activities in Canada; Direction générale des Terres, Environnement Canada; Ottawa; 1983.

12. Michelutti, R. "The establishment of vegetation on high iron-sulphur tailings by means of an overburden"; actes de la Troisième réunion annuelle de l'Association canadienne pour la restauration des terres. Université Laurentienne, Sudbury, Ontario; Canadian Land Reclamation Association, Guelph; 29 mai-1er juin 1978; pp. 25-30; 1978.

13. Silver, M.; Ritcey, G.M.; and Cauley, M.P. "Lysimetre comparison of uranium tailings deposition methods on the release of environmental contaminants"; Hydrometallurgy 15:159-172; 1985.

14. Lakshmanan, V.I. "Long term monitoring of high grade uranium mill tailings"; 85-15 SQ.23440-3-9140; CANMET, Énergie, Mines et Ressources Canada; 7 juin 1985.

15. Murray, D.R., and Okuhara, D.N. "Effect of surface treatment of tailings on effluent quality"; Reclamation Review 3:169-177; 1980.

16. Jackson, M.L. Soil Chemical Analysis; Prentice-Hall; Englewood Cliffs; 1958.

17. Jackson, M.L. Soil Chemical Analysis - Advanced Course: A Manual of Methods Useful for Instruction and Research in Soil Chemistry, Physical Chemistry of Soils, Soil Fertility and Soil Genesis; 2nd Edition; M.L. Jackson; Madison; 1969.

18. Petersen, R.G., and Calvin, L.D. "Sampling"; Methods of Soil Analysis, Part I - Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics, Measurement and Sampling, Editor-in-Chief, C.A. Black; American Society of Agronomy, Madison; pp. 54-72; 1965.

19. Allen, S.E.; Grimshaw, H.M.; Parkinson, J.A.; and Quarmby, C. Chemical Analysis of Ecological Materials; Blackwell Scientific Publications; Oxford; 1974.

20. Blake, G.R. "Particle density"; Methods of Soil Analysis, Part I - Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics, Measurement and Sampling; Editor-in-Chief, C.A. Black; American Society of Agronomy Inc., Madison; pp. 371-373; 1965.

21. Horowitz, W. (Editor) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists; 13 th Edition; Association of Official Analytical Chemists; Washington; 1980.

22. Tibbets, T.E. "Evaluation of peat bogs for peat moss production"; actes du Deuxième congrès international sur la tourbe, Léningrad, U.R.S.S., 1963; Volume 1; Editor R.A. Robinson; Her Majesty's Stationary Office, Edimbourg; pp. 169-188; 1968.

23. Dinel, H., et Lévesque, M. "Une technique simple pour l'analyse granulométrique de la tourbe en milieu aqueux"; Can J Soil Sci 56:119-120; 1976.

24. Schnitzer, M. "Organic matter characterization"; Methods of Soil Analysis, Part 2 - Chemical and Microbiological Properties; 2nd Edition; Editor, A.L. Page; American Society of Agronomy, Madison; pp. 581-594; 1982.

25. Sheldrick, B.H. Analytical Methods Manual 1984; LLRI Contribution No. 84-30; Institut de recherche sur les terres, Direction de la recherche, Agriculture Canada; Ottawa; 1984.

26. Kaila, A. "Determination of the degree of humification in peat samples"; Maataloust Aikakausk 28:18-35; 1956.

27. Farnham, R.S. "Classification of peat in the USA"; actes du Deuxième congrès international sur la tourbe, Volume 1; Éditor, R.A. Robinson; Léningrad, URSS, 1965; Her Majesty's Stationary Office, Edimbourg; pp. 115-132, 1968.

28. Von Post, L. "Das genetische System der organogenen Bildungen Schwedens" (Système de classification génétique des dépôts organogènes de Suède), Mém. nomenclature et classification des sols; Soil Sci Congr 287-304; Helsingfors; 1924.

29. Brasher, B.R.; Franzmeier, D.P.; Valassis, V.T.; and Davidson, S.E. "Use of saran to coat natural soil clods for bulk density and water retention measurements"; Soil Sci 101:108; 1966.

30. Ivarson, K.C. Communication personnelle; Agriculture Canada, Ottawa.

31. Richards, L.A. "Physical conditions of water in soil"; Methods of Soil Analysis, Part I - Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics, Measurement and Sampling; Editor-in-Chief, C.A. Black; American Society of Agronomy Inc., Madison; pp. 128-152; 1965.

32. Umbreit, W.W.; Burris, R.H.; and Stauffer, J.F. Manometric and Biochemical Techniques; 5th Edition; Burgess, Minneapolis; 1972.

33. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Including Bottom Sediments and Sludges; 12th Edition; American Public Health Association Inc., New York; 1965.

34. Incedy, J. Analytical Applications of Ion Exchangers; Pergamon Press; Oxford; 1966.

35. Vomocil, J.A. "Porosity"; Methods of Soil Analysis, Part I - Physical and Mineralogical Properties, Including Statistics, Measurement and Sampling; Editor-in-Chief, C.A. Black; American Society of Agronomy Inc., Madison 299-314; 1965.

36. Hawker, L.E., and Linton, A.H. Microorganisms: Function, Form and Environment; Elsevier; New York; 1971.

37. Collins, C.H., and Lyne, P.M. Microbiological methods; 3rd Edition; Butterworths; Londres; 1970.

38. Silverman, M.P., and Lundgren, D.G. "Studies on the chemoautotrophic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans. I. An improved medium and a harvesting procedure for securing high cell yields"; J Bacteriol 77:642-647; 1959.

39. Black, C.A., Editor-in-Chief. Methods of Soil Analysis, Part I - Physical and Mineralogical Properties Including Statistics, Measurement and Sampling; American Society of Agronomy; Madison; 1965.

40. Butlin, K.R.; Adams, M.E.; and Thomas, M. "The isolation and cultivation of sulphate-reducing bacteria"; J Gen Microbiol 3:46-59; 1949.

41. Hungate, R.E. "A roll tube method for cultivation of strict anaerobes"; Methods in Microbiology; Vol. 3B; Editors, J.R. Norris and D.W. Ribbons; Academic Press Inc.; New York; pp. 117-132; 1969.

42. Waksman, S.A., and Starkey, R.L. "Microbiological analysis of soil as an index of soil fertility: VII Carbon dioxide evolution"; Soil Sci 17:141-161; 1924.

43. Smith, I. Chromatographic and Electrophoretic Techniques; Vol. I; Heinemann; Portsmouth, N.H.; 1969.

44. Lederer, E., and Lederer, M. Chromatography; 2nd Edition, Elsevier; Amsterdam; 1957.

45. Bonn, G. "High performance liquid chromatographic elution behaviour of oligosaccharides, monosaccharides and sugar degradation products on series-connected ion-exchange resin columns using water as the mobile phase"; J Chromatog 322:411-424; 1985.

46. Schnaitman, C., and Lundgren, D.G. "Organic compounds in the spent medium of Ferrobacillus Ferrooxidans"; Can J Microbiol 11:23-27; 1965.

47. Nerkar, D.P.; Kumta, U.S.; and Lewis, N.F. "Pyruvate inhibition of Ferrobacillus ferrooxidans reversed by Torula yeast"; J Appl Bacteriol 43:17-121; 1977.

48. Tsuchiya, H.M.; Trevedi, N.C.; and Schuler, M.L. "Microbiol mutualism in ore leaching"; Biotech Bioeng 16:991-995; 1974.

49. Stahl, E. Thin Layer Chromatography. A Laboratory Handbook; Springer-Verlag; Berlin; 1969.

50. Gaffrey, M.; Morrice, N.; and Cook, M. "Determination of lactic and pyruvic acids in serum by high performance liquid chromatography"; Advances in Chromatography 21:434-436; 1984.

51. Rich, W.E.; Johnson, E.; Lois, L.; Stafford, B.E.; Kabra, P.M.; and Marton, L.J. "Organic acids by ion chromatography"; Liquid Chromatography in Clinical Analysis; Editors, L.J. Marton and P.M. Kabra; The Humana Press; Clifton, N.J.; pp. 393-407; 1981.